Aus der Universitäts-Hautklinik Freiburg im Breisgau.
Direktor: Prof. Dr. A. Stühmer.

Tierexperimentelle Untersuchungen über die Sensibilisierung gegen Mehl.

(Schultz-Dale'sche Versuche mit Mehlextrakten).

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde

in der Zahnheilkunde

der Hohen Medizinischen Fakultät der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau.

vorgelegt von

Bruno Kehres

aus Iffezheim.

1935

Buchdruckerei Hellmut Fürderer, vormals Karl Henn, Freiburg im Breisgau.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Freiburg im Breisgau.

Dekan:
Prof. Dr. Kapfhammer

Referent:
Prof. Dr. P. W. Schmidt

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit!

Einleitung.

Seit etwa 10 Jahren setzte, um sich der Konkurrenz ausländischer Mehle erwehren zu können, in der Mühlenindustrie mit sog. „Mehlverbesserern" eine chemische Behandlung der Mehle ein. Diese Mehlverbesserungsmittel, von denen die einen besonders die Backfähigkeit (Ammonium persulfat, Calciumphosphat, Kaliumbromat) steigern, andere dagegen zur Bleichung (Benzoylsupperoxyd, Stickstoffdioxyd) der Mehle dienen, fanden durch die Einführung des Vermahlungszwanges im Jahre 1929 in immer grösserem Umfange Verwendung. Es ist nun auffallend, dass gerade in den letzten Jahren, nach der Einführung dieser Mehlverbesserer, das Ekzem der Bäcker in hohem Masse zunahm, ein Umstand, der nicht nur vom gewerbehygienischen, sondern auch vom medizinisch-wissenschaftlichen Standpunkt aus, sowohl inländischen, als auch ausländischen Forschern Anlass gab, nach der Ätiologie dieser Krankheit zu fahnden.

Die Versuchsergebnisse der meisten Bäckerekzemforscher (De Jong, Parson, Tancard, White, Mummery, Starobinski, Stern, Mühlpfordt, Berger, Lesser, Epstein, Uhlmann, Sachs, Blaschko, Rost Schneider, van Vonno und Struycken, Teleky und Zitzke, P. W. Schmidt) sind in einer umfassenden Arbeit von P. W. Schmidt und in einer solchen von Teleky und Zitzke zusammenfassend niedergelegt. Die Fülle der angeführten,

das Bäckerekzem bedingenden Momente, lässt erkennen, dass wohl kaum ein Faktor unter all den Schädlichkeiten, denen die Haut des Bäckers in Ausübung seines Berufes ausgesetzt ist, nicht beachtet und als Erkrankungsursache in Erwägung gezogen wurde. Aus den Untersuchungen ist jedoch zu ersehen, dass man trotz auffälliger und übereinstimmender Befunde nicht ohne weiteres berechtigt ist, die von aussen einwirkende Noxe als einzige materia peccans anzusprechen, denn die Tatsache, dass nicht alle in diesem Gewerbe tätigen Personen von der Krankheit befallen werden, sondern nur ein ganz gewisser, relativ kleiner Prozentsatz der Bäcker erkrankt, lässt den Gedanken an eine schon vorhandene Disposition, wohl zu Recht bestehen.

Von den genannten Autoren war es zuerst P. W. Schmidt, der in dieser Richtung an einem grösseren Patientenmaterial Untersuchungen vornahm. P. W. Schmidt bediente sich dabei der Intrakutanprobe. Er versuchte als erster, durch intrakutane Injektion verschiedener Mehlextrakte eine bestehende Idiosynkrasie oder Allergie gegen Mehl bei den betreffenden Personen durch das Auftreten einer Sofortreaktion anzuzeigen. Dies ist auch in der Tat gelungen. Der grösste Teil der an Ekzem erkrankten Bäcker reagierte auf die intrakutanen Mehlextraktinjektionen mit einer starken Quaddelbildung. Da die Intrakutanproben bei den Kontrollfällen negativ ausfielen, so glaubte Schmidt den Schluss ziehen zu können, dass das Bäckerekzem in der überwiegenden Zahl der Fälle eine im Beruf erworbene Überempfindlichkeit gegen Mehl ist. An Hand von Kutanproben konnte P. W. Schmidt auch eine starke Überempfindlichkeit gegen Porit (Ammoniumpersulfat+Calciumphosphat) nachweisen. Die von P. W. Schmidt gewonnenen Versuchsresultate wurden später von Teleky und Zitzke und von van

Vonno bestätigt. Während nun van Vonno bei seinen Untersuchungen das Hauptaugenmerk darauf richtete, die allergische Komponente der reinen Mehle zu erforschen, so waren es bei Teleky und Zitzke hauptsächlich mit chemischen Zusätzen verbesserte Mehle, die zur Untersuchung gelangten. Ihre ganzen Versuchsreihen gipfeln hauptsächlich in der Beantwortung der Frage: Sind es die chemischen Zusätze und unter diesen besonders die Persulfate, die so stark sensibilisierend wirken, oder sind sie es nicht? Die an einem umfassenden Patientenmaterial vorgenommenen Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, dass eine weitgehende Ammoniumpersulfat-Überempfindlichkeit besteht. Auf Grund dieses Versuchsresultates glauben Teleky und Zitzke, im Gegensatz zu van Vonno, behaupten zu können, dass die Mehlverbesserungsmittel und unter diesen besonders das Ammoniumpersulfat stark sensibilisierend wirken. Zitzke glaubt, auch im Tierversuch durch Kutanproben die allergische Natur der Persulfate nachgewiesen zu haben. Es bleibt aber immer noch die Frage unbeantwortet, ob auch beim Tier eine reine Mehlüberempfindlichkeit erzeugt werden kann. Gleichzeitig taucht dabei das Problem auf, ob Unterschiede zwischen verbessertem und unverbessertem Mehl bestehen. Im folgenden soll über solche in dieser Richtung zielenden Versuche berichtet werden.

Als Versuchsanordnung wurde die Technik nach Schultz-Dale gewählt, eine Methodik, die bei Sensibilisierungsversuchen (vergl. Dale, Schultz, Dale und Laidlaw, Berger und Dale, Guggenheim und Löffler, Bucher, Jadassohn und Schaaf und verschiedene andere) allgemeine Anerkennung gefunden hat. Folgende Fragen sollten durch diese Versuche beantwortet werden:

1. Ist eine Sensibilisierung des Meerschweinchens gegen Mehlextrakte, d. h. Mehleiweisskörper möglich?
2. Vermag das Ammoniumpersulfat, das dem Mehl als Verbesserer zugesetzt wird, die allergische Reaktion des Mehleiweisskörpers zu steigern?
3. Ist es möglich, durch ein Serum — Ammoniumpersulfat — Gemisch die sensibilisierende Eigenschaft des Ammoniumpersulfates nachzuweisen?

Aus dieser Fragestellung heraus ergaben sich die zur Vorbehandlung der Tiere notwendigen Antigene. Als erstes wurde ein Mehlextrakt aus reinem deutschen Weizenmehl (Konzentration: 1:10) untersucht. Das zweite Antigen, das zur Untersuchung kam, war ein Mehlextrakt aus einem mit chemischen Zusätzen behandelten deutschen Weizenmehl (Konzentration 1:10. Als letztes Antigen wurde ein Menschenserum-Ammoniumpersulfat-Gemisch geprüft. Die Zusammensetzung des Gemisches war folgende: 1 Teil reines Serum, 1 Teil Ammoniumpersulfat 1:100.

Experimenteller Teil.

Prüfung der Mehle und Darstellung der Extrakte.

Die verwendeten Weizenmehle stammen aus einer Mühle in Westfalen. Es handelt sich dabei um ein und dasselbe Mehl nur mit dem Unterschied, dass das eine in reinem, das andere in verbessertem Zustand geliefert wurde. Vor der Darstellung der Extrakte wurde zur Kontrolle eine eigene Prüfung der beiden Mehle auf die Mehlverbesserungsmittel Ammoniumpersulfat, Kaliumpromat, Calciumphosphat (Mono =) und Benzoylsuperoxyd vorgenommen. Prüfung auf:

Ammonium persulfat:

Eine 15%ige neutrale Kaliumjodidlösung ergab
mit reinem Weizenmehl: keine Reaktion
„ verbessertem „ : braune Punkte

Kaliumbromat:

Die Prüfung mit einer mit Schwefelsäure entfärbten Fuchsinlösung und auch die mit einer sauren Jodkaliumlösung ergab
mit reinem Weizenmehl: keine Reaktion
„ verbessertem „ . „ „

Calciumphosphat:

Eine 2%ige Silbernitratlösung ergab
mit reinem Weizenmehl: keine Reaktion
„ verbessertem „ : „ „

Benzoylsuperoxyd:

Mit der 1%igen alkoholischen Lösung von Guajakharz erfolgte
mit reinem Weizenmehl: keine Reaktion
„ verbessertem „ : „ „

Bei dem verbesserten Weizenmehl handelte es sich also um ein mit Ammoniumpersulfat behandeltes Mehl.

Nachdem die beiden Mehle mit den obigen Reagentien durchgeprüft waren, wurden die Extrakte hergestellt. Die Zubereitungsweise derselben war folgende: 10 g Mehl wurden mit 10 g steriler physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Zur besseren Filtration wurde etwas Seesand dazugegeben, dann die Mischung gut verrührt und 5 Stunden lang in einem elektrischen Schüttelapparat bei Zimmertemperatur geschüttelt. Die so geschüttelte Lösung blieb noch 3 Stunden stehen, wurde dann 20 Stunden lang bei Zimmertemperatur filtriert und das Filtrat anschliessend durch ein Bakterienfilter („Seitz E. K. Grösse 6“) geschickt.

Die Extrakte wurden in der oben angegebenen Weise sowohl für jeden Injektionstag, als auch später für die Prüfung der Uteri, frisch dargestellt.

Vorbehandlung der Meerschweinchen.

Von den Extrakttieren erhielten 3 Tiere drei subkutane und 2 Tiere drei intraperitoneale Injektionen zu je 1,0 ccm in Intervallen von zwei Tagen.

Von den mit dem Menschenserum-Ammoniumpersulfat-Gemisch vorbehandelten Tieren erhielten alle 4 Tiere zwei subkutane Injektionen von je 0,5 ccm in viertätigem Intervall. Vor der Injektion blieb das Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch 12 Stunden bei 37° stehen.

Die so vorbehandelten Tieren kamen nach 29 – 38 Tagen in den Schultz-Dale'schen Versuch.

Die Ausführung der Schultz-Dale'schen Versuche.

Die Schultz-Dale'schen Versuche wurden im Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg ausgeführt und dazu eine vorhandene, für diesen Zweck gut geeignete Appratur verwendet.

In ein ca. $1^1/_2$ Liter fassendes Becherglas taucht das die Nährflüssigkeit enthaltende Glasgefäss mit 70 ccm Inhalt. In dieses Glassgefäss reichen das Sauerstoffzuleitungsrohr, das Flüssigkeitsabzugsrohr und ein Glasstab, der unten in ein Häckchen endet, an dem bequem das eine Ende des Uterushornes mittels eines Seidenfadens befestigt werden kann. Das obere freie Ende des Uterushornes wird durch einen Seidenfaden, der von einer kleinen federnden Drahtklemme gehalten wird, mit dem Schreibhebel verbunden, so dass die Bewegungen des Uterushornes auf dem Kyomographion in einer Ebene registriert werden können. Die Temperatur des Wasserbades

kann durch eine entsprechend klein gehaltenes Bunsenflamme bequem auf 37° gehalten werden. Mittels eines aufgestellten Zeitschreibers ist es auch möglich die Zeit in der jeweils gewünschten Zeiteinheit auf dem Kymographion zu registrieren. Die Nährflüssigkeit wird beim Spülen in ein entsprechendes Gefäss abgezogen.

Als Testobjekt für die Schultz-Dale'schen Versuche dienten die isolierten, virginellen Meerschweinchen-Uterushörner, eine Methode, die es erlaubt, infolge der verschiedenen Reizbarkeit der normalen und der anaphylaktischen glatten Muskelfaser, spezifisches Antigen nachzuweisen.

Zu den Versuchen wurden Meerschweinchen von 300—400 g verwendet. Die in der Literatur angegebenen Gewichtszahlen bewegen sich gewöhnlich unter 250g. Es ist aber in der Literatur darauf aufmerksam gemacht worden, (Vergl. O. Bucher, W. Jadassohn und F. Schaaf) dass die Uterushörner von Tieren unter 250 g sich bei der Prüfung der Reaktionsfähigkeit nur wenig kontrahieren. Diese Erscheinung fand ich auch bei einigen meiner Tiere bestätigt. Dieselben wurden deshalb für weitere Versuchszwecke nicht verwendet.

Für die Prüfung der Reaktionsfähigkeit der Uteri wurde bei 8 Tieren Hypophysin (Stammlösung: 3 Voigtlineinheiten auf 100 ccm physiologische Kochsalzlösung; davon 0,2 ccm auf 40 ccm Suspensionsflüssigkeit) verwendet, bei den übrigen Tieren Pituglandol Stammlösung: 3 Voegtlineinheiten auf 100 ccm physiologische Kochsalzlösung; davon 0,2 ccm auf 40 ccm Nährflüssigkeit). Jedes Uterushorn wurde sowohl vor, als auch nach der Antigengabe auf Reaktionsfähigkeit geprüft; vor der Antigengabe, um zu zeigen, dass der Uterus überhaupt reaktionsfähig ist, nach der Antigengabe, um zu beweisen, dass trotz Reaktions-

unfähigkeit des Uterus, die durch wiederholte Antigengabe auf das verwendete Antigen erzielt werden muss, die Reaktionsfähigkeit des Uterus auf Hypophysin = bezw. Pituglandolzusatz erhalten geblieben ist und eine beim ersten Antigenzusatz erfolgte Kontraktion als positiver Schultz-Dale'scher Versuch gewertet werden kann.

Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, der Uterus rasch herauspräpariert und jedes der beiden Hörner sofort in einer auf 37° gehaltenen, besonders geeigneten und als Nährflüssigkeit dienenden Tyrodelösung für den Versuch vorbereitet und dann der Uterus in einem sauerstoffdurchströmten, 40 ccm Nährflüssigkeit enthaltenden Gefäss suspendiert.

Während des Versuches ist auf folgendes zu achten: Das von der auf 37° gehaltenen, sauerstoffdurchströmten Tyrodelösung umspülte Uterushorn darf vor Beginn des zu wertenden Versuches keine Spontankontraktion mehr aufweisen, muss also den bei der Manipulation gesetzten Reiz in toto überwunden haben. Die Temperatur der Badeflüssigkeit muss während der Gesamtdauer des Versuches auf 37° gehalten werden. Das eingespannte Uterushorn darf während des Versuches nicht mit der Aussenluft in Berührung kommen. Es ist deshalb immer genau darauf zu achten, dass beim Spülen der Flüssigkeitsspiegel nicht unter das obere freie Ende des eingespannten Uterushornes absinkt. Manche Uteri sind äusserst empfindlich und reagieren schon äusserst stark auf Spülen. Ein so erhaltener Ausschlag (Waschzacke) darf natürlich nicht als positiver Schultz-Dale'scher Versuch gewertet werden.

Als Nährflüssigkeit diente eine Tyrodelösung folgender Zusammensetzung:

80 g Na Cl (Kochsalz).

Tyrode I: 40 ccm 10%ige Ca Cl_2 sicc.
20 ccm 10%ige K Cl
20 ccm 10%ige Mg Cl_2 sicc.
} ad 8000 ccm H_2O

Tyrode II: 10 g Na H CO_3 (Natriumbicarbonat) ad 1000 ccm H_2O

Tyrode III: 0,5 g Na H_2PO_4 (Natriumbiphosphat) ad 1000 ccm H_2O

Die drei Lösungen sind getrennt zu halten. Sie werden erst vor dem Gebrauch im Verhältnis 8:1:1 gemischt. Die zur Verwendung kommende Tyrodelösung muss eine vollkommen wasserklare Flüssigkeit darstellen. Sie ist empfindlich gegen Temperaturen über 60°. Eine über diese Temperatur erhitzte Tyrodelösung ist unbrauchbar und darf nicht mehr als Suspensionsflüssigkeit verwendet werden.

Die für jedes Uterushorn verwendete Antigenmenge wurde möglichst konstant gehalten (1,0 ccm Extrakt resp. 0,5 ccm Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch auf 40 ccm Bedeflüssigkeit). Von einer Dosisvariation wurde abgesehen, weil es sich nicht darum handelte, Vergleichswerte hinsichtlich der einzelnen Antigenquanten festzustellen, sondern lediglich darum, ob es überhaupt möglich ist, mit den entsprechenden Antigenen einen positiven Schultz-Dale'schen Versuch zu erzielen. Wenn bei den negativ ausgefallenen Versuchen die Antigendosis variiert wurde, so geschah dies nur, um zu untersuchen, ob auf eine grössere Antigengabe ein positiver Versuchsausfall resultiert.

Versuchsresultate.

Zuerst wurden die verwendeten Antigendosen am Uterus unvorbehandelter Normaltiere geprüft und dabei gefunden, dass diesselben am Normaltier unwirksam sind. Wenn kleine Kontraktionen ausgelöst wurden,

so unterscheiden sich diese nicht von den ab und zu spontan auftretenden minimalen, automatischen Kontraktionen.

Nach der Prüfung der Antigene wurde zunächst der Schultz-Dale'sche Versuch wiederholt und die Ergebnisse nachgeprüft. Nachdem die Spezifität des Kontraktionsphaenomens bestätigt war, wurden die Uteri der mit den zu prüfenden Antigenen vorbehandelten Meerschweinchen dem Schultz-Dale'schen Versuch unterzogen.

1. Extrakt aus reinem deutschen Weizenmehl

(Konzentration: 1:10)

Tabelle I.

Vorbehandlung	Meerschweinchen Nr.	Tage nach d. letzten Injektion	Dosis in ccm	Resultat
subkutan				
In zweitägigem	6 r. Horn	33	1,0	—
Intervall 3 mal	l. „		1,0	—
je 1,0 ccm	7 r. „	33	1,0	—
	l. „		1,0	—
	8 r. „	34	1,5	—
	l. „		2,0	—
intraperitoneal				
In zweitägigem	9. r. „	35	1,0	+
Intervall 3 mal	l. „		1,0	+
je 1,0 ccm	10 r. „	34	1,0	—
	l. „		1,5	—

Aus dieser Tabelle ergibt sich folgendes:

Von den 3 subkutan injizierten Tieren ergab keines einen positiven Schultz-Dale'schen Versuch.

Von den beiden intraperitoneal injizierten Tieren ergab das Tier, welches 35 Tage nach der letzten Injektion in den Schultz-Dale'schen Versuch kam, einen positiven Versuchsausfall an beiden Hörnern. Beide Hörner wurden auch auf das Absättigungsphaenomen untersucht, wobei dieses an jedem Horn einwandfrei nachgewiesen werden konnte.

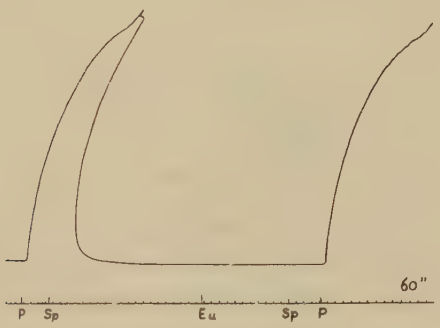

Fig. 1. 12. III. 35. Meerschweinchen Nr. 7

P = Pituglandol
Sp = Spülen
Eu = unbehandelter Extrakt

Negativer Schultz-Dale'scher Versuch bei einem mit aus unbehandelten Weizenmehl hergestellten Extrakt vorhandelten Meerschweinchen 33 Tage nach der letzten subkutanen Injektion.

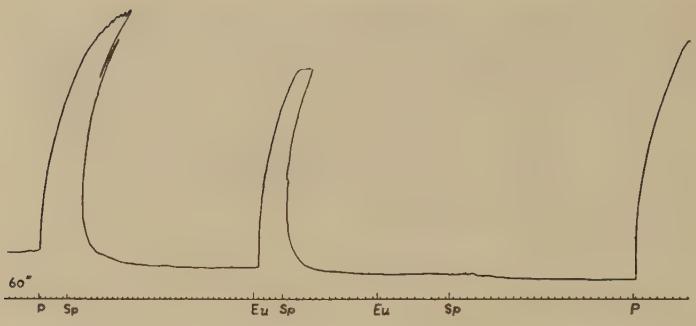

Fig. 2 14. III. 35. Meerschweinchen Nr. 9
P = Pituglandol
Sp = Spülen
Eu = unvorbehandelter Extrakt

Positiver Schultz-Dale'scher Versuch bei intraperitoneal injizierten Meerschweinchen (1,0 ccm Eu) 35 Tage nach der letzten Injektion, mit Neutralisationsphaenomen.

2. Extrakt aus mit Ammoniumpersulfat verbesserten deutschen Weizenmehl (Konzentration 1:10)

Tabelle II

Vorbehandlung	Meerschweinchen Nr.	Tage nach d. letzten Injektion	Dosis in ccm	Resultat
subkutan				
In zweitägigem	11 r. Horn	35	1,0	?
Intervall 3 mal	l. „		1,0	?
je 1,0 ccm.	12 r. „	36	1,0	+
	l. „		1,0	+
	13 r. „	36	1,0	+
	l. „		1,0	+
intraperitoneal				
In zweitägigem	14 r. „	38	1,0	+
Intervall 3 mal	l. „		1,0	+
je 1,0 ccm	15 r. „	38	1,0	+
	l. „		1,0	+

Aus Tabelle II ergibt sich, dass vier Tiere, die mit dem mit Ammoniumpersulfat verbesserten Weizenmehlextrakt vorbehandelt wurden, positive Resultate ergaben. Bei einem Tier musste an beiden Hörnern der Reacktionsausfall in Frage gestellt werden, da der Uterus bei Antigenkontakt nur sehr minimal reagierte und erst beim Spülen eine starke Kontraktion erfolgte. Eine nochmalige Antigengabe gab bei beiden Hörnern keine Reaktion; die folgende Auswaschung löste aber auch keine Reaktion mehr aus.

7 Hörner der positiv reagierenden Tiere wurden auf das Neutralisationsphaenomen geprüft. Bei 6 Hörnern wurde nach der zweiten Antigengabe vollkommene Absättigung erzielt. Bei einem Horn erfolgte auf die zweite Antigendosis ebenfalls eine Kontraktion, die allerdings nicht mehr so stark war, wie bei der ersten Antigengabe. Eine dritte Antigengabe bewirkte auch an diesem Horn eine totale Absättigung.

Sämtliche auf das Neutralisationsphaenomen geprüften Uteri wurden nach erfolgter Absättigung mit Pituglandol auf erhaltene Reaktionsfähigkeit untersucht und diese in jedem Falle einwandfrei in keineswegs verminderter Stärke nachgewiesen.

Ein Horn eines positiv reagierenden Tieres wurde auch auf Menschenserum (nicht zur Vorbehandlung verwendetes Antigen) geprüft. Das Resultat war negativ. Auf eine homologe Antigengabe reagierte auch dieses Horn mit einer starken Kontraktion.

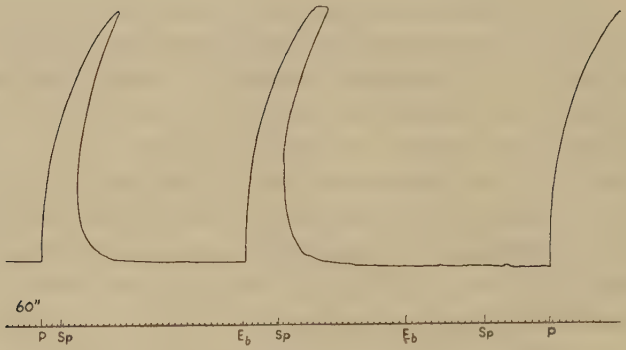

Fig 3. 15. III. 35. Meerschweinchen Nr. 12
P = Pituglandol
Sp = Spülen
Eb = behandelterExtrakt

Positiver Schultz-Dale'scher Versuch bei einem mit Ammoniumpersulfat verbessertem Weizenmehlextrakt vorbehandelten Meerschweinchen, 36 Tage nach der letzten Injektion, mit Neutralisationsphaenomen.

3. Menschenserum + Ammoniumpersulfat (1:100)

Konzentration 1:1

Tabelle III

Vorbehandlung	Meerschweinchen Nr.	Tage nach d. letzten Injektion	Dosis in ccm	Resultat
subkutan				
In viertägigem	24 r. Horn	29	0,5	+
Intervall 2 mal	l. „		0,5	+
je 0,5 ccm.	25 r. „	29	0,5	+
	l. „		0,5	+
	26 r. „	30	0,5	+
	l. „		0,5	+
	27 r. „	30	0,5	+
	l. „		0,5	+

Aus Tabelle III ergibt sich, dass bei allen 4 Tieren (8 Hörner) ein positiver Schultz-Dale'scher Versuch erzielt werden konnte. Alle 4 Tiere (7 Hörner) wurden auf das Absättigungsphänomen untersucht, wobei bei jedem Tier durch eine wiederholte Antigengabe vollkommene Neutralisation festgestellt werden konnte.

3 Tiere (3 Hörner) wurden auch auf Ammoniumpersulfat (1:100) geprüft. Das Resultat war in jedem Falle negativ. Das nach der Spülung gegebene, zur Vorbehandlung verwendete Antigen, löste bei jedem dieser Tiere eine starke Kontraktion aus. Auch bei diesen Tieren konnte durch eine nochmalige Antigendosis eine vollständige Absättigung erzielt werden.

Bei einem Tier (2 Hörner) wurde Serum allein gegeben. Es trat, wie auch erwartet wurde, eine starke Kontraktion ein. Auch die Uterushörner dieses Tieres konnten sowohl mit dem Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch (1 Horn) als auch mit Serum (1 Horn) allein abgesättigt werden.

Ein Tier (1 Horn) wurde noch auf die beiden Extrakte geprüft. Das Resultat war negativ.

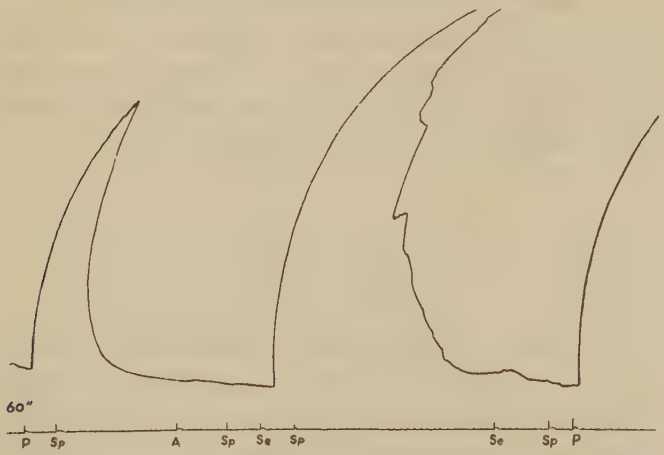

Fig. 4 16. III. 1935. Meerschweinchen Nr. 25
P = Pituglandol, Se = Serum, Sp = Spülen,
A = Ammoniumpersulfat 1:100.

Negativer Schultz-Dale'scher Versuch bei der Prüfung des heterologen Antigen (nicht zur Vorbehandlung verwendetes Antigen). Positiver Versuchsausfall bei nachfolgender Serumgabe mit Neutralisationsphaenomen.

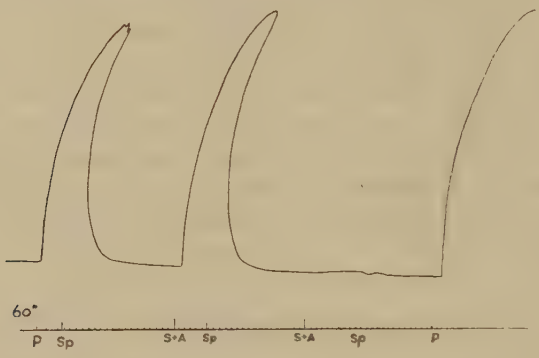

Fig. 5. 16. III. 35. Meerschweinchen Nr. 24.

P = Pituglandol, Sp = Spülen

S + A = Serum-Ammoniumpersulfat.

Positiver Schultz-Dale'scher Versuch bei einem mit dem Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch vorbehandelten Meerschweinchen 29 Tage nach der letzten Injektion, Neutralisationsphaenomen.

Epikrise.

Das Versuchsergebnis zeigt in der Tat, dass es möglich ist, Meerschweinchen mit Mehlextrakten zu sensibilisieren und positive Schultz-Dale'sche Versuche zu erhalten. Das positive Versuchsergebnis, das 4 von den 5 mit dem mit Ammonium-Persulfat verbesserten Mehlextrakt vorbehandelten Tiere lieferten, ist sehr auffällig. Die 4 negativen

Versuchsausfälle der Tiere, die mit reinem Weizen mehlextrakt vorbehandelt wurden, könnten vielleicht ein Zufallsergebnis darstellen. Es spielt bei diesem ganzen Reaktionsgeschehen sowohl die Zeit zwischen Injektion und Schultz-Dale'schem Versuch, als auch der Injektionsmodus eine Rolle. Da von den beiden intraperitoneal injizierten Tieren gerade das Tier positiv reagierte, das zuletzt (35 Tage post injektionem) in den Versuch kam, so besteht die Möglichkeit, dass die Umstimmung nach dieser Zeitspanne eben erst eintrat und die 4 negativ reagierenden Tiere etwas zu früh dem Schultz-Dale'schen Versuch unterzogen wurden. Wollte man in diesem Falle etwas mit Bestimmtheit aussprechen, so wären die Versuche mit einer grösseren Anzahl Tiere zu wiederholen, das Zeitintervall zwischen letzter Injektion und Schultz-Dale-schem Versuch grösser zu wählen und zugleich die Zeiten mehr zu variieren. Würde eine Wiederholung der Versuche in diesem Sinne das gleiche Resultat liefern, so könnte man aus dem Ergebnis den Schluss ziehen, dass das Ammoniumpersulfat eine Veränderung des Mehlproteins bewirkt, welche die antigene Eigenschaft des Mehles steigert. Will man die Ergebnisse solcher Tierversuche hinsichtlich der bestehenden Ansichten für die Entstehung des Bäckerekzems auswerten, so dürfte damit bewiesen sein, dass eine Sensibilisierung gegen Mehleiweiss auch im Tierversuch leicht möglich ist. Diese Tatsache ist eine Stütze für die Ansicht von P. W. Schmidt, der ja auch, wie erwähnt, durch Intrakutanproben beim Menschen zur gleichen Schlussfolgerung kam. Sollte durch weitere Versuche das bisher nur im Bereich der Möglichkeit erscheinende Ergebnis einer durch Ammoniumpersulfat gesteigerten antigenen Fähigkeit des Mehleiweisskörpers zur Tatsache werden, so würden damit unsere Erkenntnisse über die Mehl-

überempfindlichkeit der Bäcker und die Entstehung des Bäckerekzems wesentlich gefördert werden.

Das Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch wurde zur Vorbehandlung benutzt in der Erwartung, es liesse sich vielleicht damit die sensibilisierende Eigenschaft des Ammoniumpersulfates nachweisen. Man war geneigt, anzunehmen, dass das Ammoniumpersulfat im Tierkörper mit dem Serum so reagiert, dass eventuell eine Art komplexes Antigen entsteht. Diese Annahme, dass das Ammoniumpersulfat mit Serum zusammengebracht wie ein Haptèn wirken, in vitro also mit letzterem eine spezifische Reaktion eintreten würde, bestätigt sich nicht. Keines der untersuchten, mit dem Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch vorbehandelten Tiere ergab mit Ammoniumpersulfat einen positiven Schultz-Dale'schen Versuch, wohl aber mit Serum. Es hat sich somit erwiesen, dass Ammoniumpersulfat in einer so geringen Konzentration das Serum in keiner Weise verändert und in diesem Falle die spezifische Reaktion, die sich als positiver Schultz-Dale'scher Versuch manifestierte, dem Serum allein beizumessen ist.

Aus Kontrollgründen wäre es noch von Interesse gewesen, zu untersuchen, wie mit Serum vorbehandelte Tiere auf Ammoniumpersulfat reagieren und umgekehrt. Auch mit Ammoniumpersulfat vorbehandelte Tiere hätten im Schultz-Dale'schen Versuchs auf Ammoniumpersulfat geprüft werden müssen. In Anbetracht der zu dieser Zeit äusserst schwierigen Beschaffung von Versuchstieren, war es jedoch nicht möglich, die Versuche in dieser Richtung hin zu erweitern. Ich musste mich aus diesem Grunde mit den dreien zur Verwendung gelangten Antigenen begnügen. Bei einer Wiederholung der Versuche werden die eben angedeuteten erweiterten Kontrollen noch vorgenommen werden müssen.

Als Kontrolle für die Spezifität der Reaktion sptelt das „**Neutralisationsphaenomen**" (Absättigungsphaenomen, Desensibilisierung) eine bedeutende Rolle. Dieses Phaenomen ist dadurch charakterisiert, dass durch eine oder mehrfach wiederholte Antigengabe, auf die bei der ersten Applikation eine starke Kontraktion des Uterus erfolgte, die Kontraktion des Uterus sehr stark abnimmt, resp. vollkommen erlischt, wobei aber die Kontraktionsfähigkeit des Uterus erhalten bleibt. Ob der Muskel noch kontraktionsfähig ist, muss deshalb in jedem Falle, in dem Neutralisation eingetreten ist, durch eine Pituglandol oder Hypophysingabe kontrolliert werden. Da dem positiven Neutralisationsphaenomen allgemein eine so grosse Bedeutung beigemessen wird, wurde bei fast allen Tieren, die einen positiven Schultz-Dale'schen Versuch ergaben, der Neutralisationsversuch durchgeführt und in jedem der Fälle die Neutralisation einwandfrei festgestellt.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

1. Es ist möglich, mit Mehlextrakten Meerschweinchen zu sensibilisieren und positive Schultz-Dale-Versuche zu erzielen.
2. Die positiven Versuchsresultate der mit dem mit Ammoniumpersulfat verbesserten Weizenmehlextrakt vorbehandelten Tiere übersteigt die Zahl der mit reinem Weizenmehlextrakt vorbehandelten in hohem Masse. Eine Wiederholung der Versuche mit einem grösseren Tiermaterial in einem grösseren Zeitintervall ist wünschenswert.
3. Es ist nicht möglich, mit einer so einfachen Methodik, wie sie das Serum-Ammoniumpersulfat-Gemisch darstellt, die sensibilisierende Eigenschaft des Ammoniumpersulfates nachzuweisen.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. A. Stühmer und im besonderen Herrn Prof. Dr. P. W. Schmidt, dem Oberarzt der Klinik, für die Überlassung des Themas, die Arbeitserlaubnis in der Klinik, für die freundliche Unterstützung bei der Ausarbeitung der Arbeit und für die Durchsicht der Dissertation meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Zugleich danke ich an dieser Stelle dem Direktor des Pharmakologischen Institutes, Herrn Prof. Dr. S. Janssen und seinen Mitarbeitern für die freundliche Überlassung der Apparatur, die Benützung der Institutseinrichtung, die Angaben einer besonders geeigneten Modifikation der Tyrodelösung und für das in jeglicher Hinsicht geäusserte Entgegenkommen.

Literatur.

Biberstein: Überempfindlichkeit. (Zbl. f. Haut- u. G. K. Bd. 22, S. 18, 1927).

Bloch u. Steiner-Wourlisch: Die willkürliche Erzeugung der Primelüberempfindlichkeit bei Menschen und ihre Bedeutung für das Idiosynkrasieproblem. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 152, S. 283, 1926).

Bucher, Jadassohn u. Schaaf: Schultz-Dale'sche Versuche mit Tuberkulinpräparaten. (Zeitschr. f. Immunitäts-Forsch. Bd. 76. S. 241, 1932).

Dale, H. H.: 1. The anaphylactic reaction of plain muscle in the guinea-pig. (Journ. of Pharmac. and exp. Therpa. Vol. IV. p, 167, 1912)

2. The effect of varying tonicity on the anaphylactic and other reaktions of plain muscle. (Journ. of Pharmac. and exp. Therap. Vol. IV, 1912, p. 517).

Dale, H. H. and Laidlaw: A method of standardising pituitary (infundibular) extracts. (Journ. of Pharmac. and exp. Therap. Vol. IV. p. 75, 1912).

Doerr u. Russ: Studien über Anaphylaxie (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2, S. 109, 1909).

Frei W.: Über willkürliche Sensibilisierung gegen chemisehe definierte Substanzen. (Klin. Wschr. S. 539, 1928).

Guggenheim u. Löffler: Biologischer Nachweis proteinogener Amine in Organextrakten und Körperflüssigkeiten (Biochem. Zschr. Bd. 72, S. 303, 1916).

Hackenthal: Das zeitliche Auftreten der Überempfindlichkeit am mit Pferdeserum sensibilisierten Tier. (Zbl. f. Bakteriologie Bd. 100, S. 371, 1926).

Haxthausen: Bäckerekzem. (Zbl. f Haut- und Geschl. Kr. Bd. 41, S. 682, 1932).

Jadassohn u. Schaaf: Schultz-Dale'sche Versuche mit dialysiertem Trichophytin (Klin. Wschr. Nr. 30 S. 1170, 1933) Untersuchungen über den Mechanismus der anaphylaktisch-urticariellen Reaktion. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 170, S. 33, 1934).

Der Schultz-Dale'sche Versuch mtt Trichophytin. (Klin. Wochenschrift Nr. 20, S. 857, 1932).

Jong: A suggested aetiology of Bakers dermatitis. (Lancet, Bd. 204, Nr. 18, S. 894, Zbl. f. Haut- u. Geschl. Krankh. Bd. 12, S. 377).

Klewitz u. Wigand: Über die Natur der Allergene. (Klin. Wochenschr. Bd. 6, S. 1432, 1927).

Landsteiner: Über komplexe Antigene. (Klin. Wsch. Bd. 3, S. 103, 1927). Die Spezifizität der serologischen Reaktionen (Verlag von Julius Springer, Berlin 1933).

Lenk: Bäckerekzem. (Dermat. Wschr. Bd. 96, S. 887, 1933).

Lomholt: Bäckerekzem. (Zbl. f. Haut- u. Geschl. Krankh. Bd. 41, S. 682, 1932).

Massini: Über die anaphylaktische Reaktion des Meerschweinchendarm. (Zschr. f. Immunitätsforschung Bd. 25. S. 179, 1916).
Weitere Untersuchungen am anaphylaktischen Meerschweinchendarmes. (Zschr. für Immunitätsforschung, Bd. 27, S. 213, 1918).

Mayer, R. L.: Die Ursolidiosynkrasie des Meerschweinchens. (Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 163, S. 223, 1931).

Moss: Mehlbehandlung. (Zschr. f. d. gesamte Getreidewesen, Nr. 6, 1928).

Mühlpfordt: Zur Ursache des Ekzems der Bäcker. (Dermat. Wschr. Bd. 80, S. 708, 1925).

Mummery: Backers Dermatitis. (Lancet Bd. 209, Nr. 13, S. 647, 1925). Zbl. f. Haut. u. Geschl. Krankh. Bd. 19, S. 403)

Parson: Abstract of report on Bakersitch. (Journ. of industr. hyg. Bd. 5, Nr. 11, S. 410. Zbl. f. Haut- u. Geschl. Krankh. Bd. 15, S. 75).

Rost: Über das Ekzemproblem. (Münchn. med. Wschr. Bd 8, S. 287, 1933).

Schilling u. Hackenthal: Überempfindlichkeitsversuche mit wässerigen Extrakten aus Tuberkelbazillen nach der Schultz-Dale'schen Methode. (Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 102, S. 417, 1924 und Bd. 104, S. 619, 1925).

Schmidt, P. W.: Allergische Hauptproben bei Bäckerekzemen. Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 156, S. 286, 1927).

Schultz, W. H.: The reaction of smouth muscle of the guinea-pig sensitized with horse serum. (Journ. of Pharmac. and exp. Therap. Vol. I. p. 549).

Tancard: Note on „Bakers Ekzema" (Lancet, Bd. 205, Nr. 6, S. 279. Zbl. f. Haut- u. Geschl. Krankh. Bd. 16, S. 217).

Stern: Untersuchung zur Entstehung des Bäckerekzems, zugleich Beitrag zur Frage der Funktionsprüfung der Haut. (Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 153, S. 286, 1927).

van Vonno u. Struycken: Untersuchungen über die Entstehung des Bäckerekzems. (Dermat. Zschr. Bd. 67, S. 43 und S. 337, 1933).

Walger; Untersuchungen über das Bäckerekzem. (Medizinische Welt Nr. 38, S. 153, 1934).

Withe: The ekzems of bread bakers and confectioners. (Brit. journ. of. dermatol. and syphilis. Bd. 37, Nr. 4, S. 163. Zbl. f. Haut- u. Geschl. Krankh. Bd. 17, 885).

Zitzke: Die Ursache des Bäckerekzems. (Deutsche med. Wschr. Nr. 17, S. 642, 1934)

Beitrag zur Frage der allergischen Natur des Bäckerekzems. (Dermat. Wschr. Bd. 95, S. 1009, 1932).

Zur Prüfung der Ekzembereitschaft bei Hautgesunden, Hautkranken und Allergikern; ihre praktische Bedeutung. (Dermat. Wschr. Bd. 95, S. 1425, 1932).

Zitzke: Unsere Eignungsprüfungen für den Bäckerberuf. (Dermat. Wschr. Bd. 96, S. 915, 1933).

Weitere klinische und tierexperimentelle Untersuchungsergebnisse über die Ursache der Berufsekzeme bei Bäckern. (Dermat. Zschr. Bd. 67, S. 209, 1933).

Lebenslauf.

In Baden-West am 9. April 1905, als Sohn des Rennbahninspektors Stefan Kehres, geboren, besuchte ich die Schulen in Iffezheim und Rastatt. Nach Ablegung der Reifeprüfung 1927 an der Oberrealschule zu Rastatt, studierte ich Maschinenbau auf der T. H. zu Karlsruhe. Im Sommer 1931 widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde in Freiburg. Hier bestand ich 1933 das zahnärztliche Physikum, das Staatsexamen im November 1934.